

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**EAP. DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**Incidencia y aislamiento de Brucella en un grupo de  
pacientes sintomáticos**

**TRABAJO DE APTITUD PROFESIONAL**

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

**AUTOR**

Gustavo Antonio Guerra Brizuela

**ASESOR**

José Irey Namijira

Lima - Perú

1993

**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA**



Biblioteca Central  
Universidad N. M. de San Marcos

**« Incidencia y Aislamiento de Brucella en un  
Grupo de Pacientes Sintomáticos »**

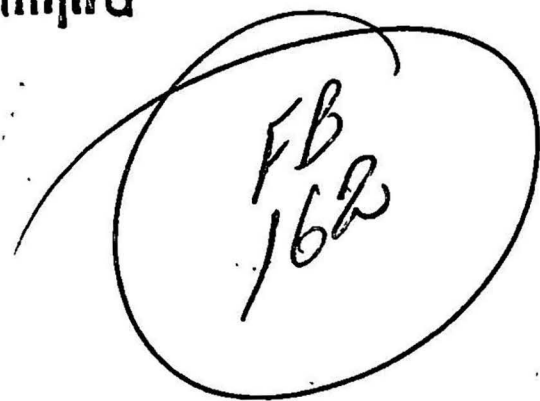
**Trabajo de Aptitud Profesional  
Para optar el Título de  
QUIMICO FARMACEUTICO**

**Gustavo Antonio Guerra Brizuela**

**Asesor : Dr. José Irey Namijira**

**LIMA . PERU**

**1993**



**A MIS PADRES :**

Gustavo y Glicería, con cariño  
y gratitud por su constante  
orientación y apoyo.

**A MI ESPOSA :**

Consuelo Cruz con cariño y amor; por su apoyo, comprensión y sacrificio, que permitieron culminar mi formación profesional.



**A MIS HIJOS :**

Ana Patrícia, Gustavo Manuel,  
Sílvia Consuelo y Cristina Pilar.

A quienes debo, el esfuerzo para  
concluir éste trabajo de Aptitud  
Profesional, deseando sea un  
estímulo de superación para ellos.

**A MIS HERMANOS :**

Mario, Rubén, Juan y Alberto.  
Por su colaboración y apoyo.  
A ellos, mi gratitud y cariño.

**AL Dr. DARIO SALCEDO COA,**

Por su desinteresada colaboración,

y valiosas sugerencias, para culminar,

el presente trabajo.

**AL Dr. JOSE IREY NAMIJIRA.**

Por su valiosa asesoría y apoyo

constante para lograr el desarrollo

del presente trabajo.

**A MIS AMIGOS :**

Expreso toda mi gratitud y un especial

reconocimiento a Gualberto López,

Jorge Asmat, Martha Pacheco, Raúl Aguilar

y Liliana Cáceres, por su apoyo y

sincera amistad.

MI AGRADECIMIENTO ESPECIAL AL PRESIDENTE  
DEL JURADO CALIFICADOR, Dr. ARREDONDO ZEGARRA,  
RUBEN y MIEMBROS DEL JURADO EXAMINADOR.

- Dra. ALCANTARA de DE LA ROSA, DINA.
- Dr . GAMARRA BALLENA, GERARDO.
- Dr . IREY NAMIJIRA, JOSE.

POR LAS VALIOSAS SUGERENCIAS DADAS PARA LA  
CULMINACION DEL PRESENTE TRABAJO.

## S U M A R I O

### RESUMEN.

I.- INTRODUCCION.	3
II.- GENERALIDADES.	8
2.1 Características Principales y Estructura Antigénica del Género Brucella.	9
2.1.1 Características Principales	9
2.1.2 Estructura Antigénica	11
2.1.2.1. Antígenos de Superficie	12
2.1.2.2. Antígenos Internos	15
2.1.2.3. Función de los Antígenos Individuales en Prueba de Diagnóstico	15
2.2 Diagnóstico Clínico de Pacientes Sintomáticos.	16
2.2.1. Brucelosis aguda	17
2.2.2. Brucelosis Crónica.	20
2.3 Características Epidemiológicas.	21
III.- PARTE EXPERIMENTAL.	24
3.1 Materiales y Medios	24
3.1.1. Materiales de Vidrio y otros.	24
3.1.2. Medios de Cultivo	24

3.1.3. Reactivos	26
3.2. Método Operatorio.	26
3.2.1. Muestra ( Flujograma )	
3.2.2. Procesamiento de la Muestra	27
IV.- RESULTADOS.	31
V.- DISCUSION.	42
VI.- CONCLUSIONES.	46
VII.- REFERENCIA BIBLIOGRAFICA.	47

## RESUMEN

La finalidad del presente trabajo fue determinar la incidencia y aislamiento de especies de *Brucella* en pacientes clínicamente sintomáticos y mediante análisis de aglutinaciones, hemogramas y su respectivo cultivo de muestras de sangre ( Hemocultivos ).

Los casos investigados fueron seleccionados entre los pacientes concurrentes al Servicio Académico Asistencial de Análisis Clínicos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, entre los meses de Enero a Agosto de 1992.

Se estudiaron 172 muestras de pacientes, tomando en cuenta su orden de análisis de hemograma, aglutinaciones y sintomatología presentada en el momento de la toma de muestra para proceder con el Hemocultivo.

Se obtuvo positividad inmunológica en 26 pacientes (15.11% ) y positividad bacteriológica mediante Hemocultivos en 4 pacientes. Con mayor prevalencia en el grupo etario de 20 a 30 años.

Para el aislamiento de la *Brucella*, se ensayaron Hemocultivos en medios bifásicos, elaborados en base a infusión de papa, tanto para el medio sólido como para

el medio líquido, lográndose aislar 2 serotipos de Brucella : 3 cepas de Brucella melitensis y 1 cepa de Brucella abortus.

Las cepas de Brucella, representan el 2.33% del total de pacientes estudiados, de los cuales 2 son del sexo femenino y 2 son del sexo masculino.

## I INTRODUCCION

La brucelosis es una zoonosis que tiene importan por su repercusión en la salud de la población humana, especialmente en el grupo económicamente activo y por el impacto en la economía del país, debido a los altos costos para la recuperación de los enfermos y la baja de la productividad del recurso humano, debido a la incapacidad física temporal ó permanente.

En el Perú, el reservorio principal de la brucelosis, desde el punto de vista salud pública, lo constituye el ganado caprino (2).

El problema de la brucelosis humana en el Perú, está circunscrito a los departamentos de Lima y la Provincia Constitucional del Callao, en donde, según últimas estadísticas, se registran más del 90% de los casos ocurridos en los últimos años. Esta área representa a proximadamente el 35% de la población total del país - (2) (18).

La forma de transmisión de la brucelosis más frecuenta en el humano, es por medio del consumo de " quesos frescos " elaborados con leche procedente de cabras infectadas. Ello obedece a rasgos culturales de la gente de las áreas mayormente comprometidas ( Departamen -



tos de Lima, Ica y Provincia Constitucional del Callao) en donde la totalidad de la producción láctea de ésta especie animal es dedicada a la producción de dicho tipo de queso.

La transmisión de brucelosis en humanos por consumo de leche de vacas infectadas, está bastante limitada, principalmente por el rasgo cultural de la gente de hervir la leche antes de consumirla, y en cuanto a los subproductos, la elaboración de quesos en la gran mayoría de casos, se hace con leche hervida ó pasteurizada.

La transmisión de brucelosis a humanos por otras especies animales ú otros tipos de Brucellas, es escasa y está circunscrita a la población en riesgo por contacto con animales infectados, como médicos veterinarios, ganaderos, trabajadores del campo pecuario, trabajadores de camales, etc.

La brucelosis en humanos tiene una variación estacional, apreciándose en el análisis de frecuencia, que la mayor incidencia ocurre entre los meses de Septiembre a Febrero.

De acuerdo a las características epidemiológicas de la enfermedad en el hombre, se determinó que el ganado caprino constituía el principal reservorio de la enfermedad para la población humana. (11). (18) (40) (41).

La explotación del ganado caprino en las zonas - endémicas de brucelosis para el hombre, que comprenden los Departamentos de Lima, Ica y la Provincia Constitucional del Callao, se hace en forma extensiva y está en manos de pequeños ganaderos de bajo poder económico (2)

En la costa central que es el área problema de brucelosis humana, el ganado caprino es nómada en razón que el ganadero tiene que ir ubicando sus animales donde hay la disponibilidad de pastizales, recorriendo constantemente desde las lomas y quebradas de la Cordillera Occidental de los Andes hasta los valles de la Costa.

El objetivo de la explotación de éste tipo de ganado en ésta zona es el comercio del queso fresco y de la carne de Cabrito. La elaboración del queso se hace artesanalmente en condiciones sanitarias deficientes, constituyendo éste producto un alto riesgo para la salud en relación a brucelosis y otras enfermedades para el consumidor.

Se considera que la brucelosis de las cabras es la que constituye el más serio problema para la salud pública, por cuanto en un estudio realizado en los últimos años, revela que prevalece en más del 90%. Es decir que las cepas aisladas de los casos humanos corresponden a *Brucella melitensis*. (30) (31) (40).

La brucelosis bovina producida por *Brucella abortus*, está difundida en el país, especialmente en las cuencas lecheras de Arequipa, Trujillo, Cajamarca y Lima en donde el sistema de explotación es intensa. (2) (11) (18).

Los casos de brucelosis canina, porcina y ovina, solo se mencionan, por cuanto, si bien es cierto que se han logrado aislar cepas, éstas no corresponden a trabajos reportados. Por otro lado, no constituyen un problema de salud pública.

En virtud de éstos hechos en nuestro país se vienen efectuando actividades de control de brucelosis, orientadas a la prevención de la enfermedad en el hombre, desde hace varias décadas, tales como la pasteurización y la vacunación del ganado bovino.

Un hecho saltante es que los hospitales, centros de salud y postas médicas reportan sus casos directamente a la Oficina de Estadísticas del Ministerio de Salud.

Participan en la notificación de ésta zoonosis, el Instituto Peruano de Seguridad Social, Centro Médico Naval, Hospital de las Fuerzas Armadas y Policiales. Lamentablemente el informe es incompleto y los casos

diagnosticados por la práctica privada, no son reportados.

En cuanto a los estudios de aislamiento de Brucella en Humanos, se avanza lentamente en razón de los pocos recursos con que se cuentan en las instituciones estatales para tales fines.

Por todas éstas consideraciones, el presente trabajo tiene como objetivo, determinar la incidencia de Brucelosis, en pacientes sintomáticos, considerando edad y sexo. Además se pone en ensayo la modificación del medio bifásico de Ruiz Castañeda, preparándolo a base de una infusión de papa, el cual sirvió para el aislamiento bacteriológico de la Brucella. Pretendiendo con ello, sea una pequeña contribución para mejorar el aislamiento de Brucella en seres humanos.

Cabe señalar que no se ha establecido comparación alguna con los medios convencionales.

Se ha elegido el servicio Académico Asistencial - de Análisis Clínicos ( SAAAC ) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos como centro de recolección de muestras, por que a él, afluyen un número significativo de pacientes, los cuales provienen de todos los distritos de la Gran Lima, sin distingo social ni económico.

## II. GENERALIDADES

La brucelosis, llamada también fiebre ondulante o también fiebre Malta, es una enfermedad que ataca mayormente a los animales ( principalmente cabras, vacas, cerdos y ovejas ), puede desafortunadamente, atacar también a los seres humanos que se ponen en contacto con los animales infectados o sus productos (2) (22) (40) (11).

En 1886 el cirujano y bacteriólogo inglés David Bruce, en una isla de Malta, aisló por primera vez el germen que causa la enfermedad, apartir del bazo de un soldado que presentabā en ese entonces la llamada fiebre de Malta. Lo llamó *Micrococcus melitensis* (22) (41) (15).

En 1897, Bang (11) aisló de animales vacunos afectados por aborto, el *Micrococcus abortus*.

En 1918, la Srta. Evans, de Washington - EEUU, descubrió que el agente productor de la fiebre Malta y el del aborto vacuno eran prácticamente iguales. Ya en 1920 Dubois propuso, en honor de Bruce, el nombre de *Brucella* al micro-organismo causante de las enfermedades producidas en el hombre y los animales (11) (15).

El género *Brucella* tiene las especies : *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis* y *B. canis* (11) (15) (40).

Siendo las tres primeras especies las patógenas para el hombre (11) (40). Y dentro de éstas prevalece en nuestro país la especie *B. melitensis* (2).

Dentro de su género se efectúan exámenes clásicos para su tipificación, como determinar las necesidades de  $\text{CO}_2$  la producción de  $\text{H}_2\text{S}$ , la sensibilidad a colorantes ( tionina y fucsina básica ) y las reacciones de aglutinación con antisueros monoespecíficos. Sin embargo, éstos métodos han presentado algunos inconvenientes para la identificación, por lo cual en la actualidad se emplean pruebas de lisis por fagos y la oxidación metabólica para diferenciar las especies (11) (15) (24) (40).

## 2.1. CARACTERISTICAS PRINCIPALES Y ESTRUCTURA

### ANTIGENICA DEL GENERO BRUCELLA.

#### 2.1.1. CARACTERISTICAS PRINCIPALES.

*Brucella* es la más pequeña de todas las bacterias Gram negativas, miden de 0.5 a 0.7 um de largo.

Se describe como un cocobacilo o bacilo corto, no móvil, no esporulado que crece mal en medios comunes y requiere medios especiales para su desarrollo.

Los organismos son aerobios, sin crecimiento en condiciones anaerobias; el crecimiento mejora a menudo con atmósfera de  $\text{CO}_2$ . Son oxidantes de glucosa en medio apropiado, con reacciones variables de oxidasa y no crecen en agar Mac Conkey.

El género *Brucella* se describe como de afiliación incierta en la 7ª parte de la 8ª edición de Bergey's Manual. Son parásitos obligados que producen infección aguda, crónica, o no detectable en animales y puede causar enfermedad humana.

Se multiplican en células fagocíticas. Su localización sigue generalmente a la infección generalizada ( Subcomisión de Taxonomía de Brucellas ) (15).

Los organismos pueden ser bacilos cocoides u ovoides de longitud variable, 0.5 a 2  $\mu\text{m}$  de ancho, sin tendencia a formar grupos característicos. Cuando se observan en frotis preparados a partir del medio sólido tienen una distribución uniforme. Cuando están presentes en su forma bacilar más grande, pueden mostrar coloración bipolar.



*B. melitensis*, recientemente aislada, muestra más formas cocoides y *B. abortus* y *B. suis* son menos cocoides y más bacilares.

La *Brucella* no es móvil ni esporulada, y según Huddleson es capsulada (15).

Las especies *B. ovis*, *B. neotomae* y *B. canis*, se han descrito recientemente; de ellas únicamente *B. canis* parece tener algún papel en la enfermedad humana.

#### 2.1.2 ESTRUCTURA ANTIGENICA DEL GENERO BRUCELLA.

Desde el descubrimiento de los epítomos A y M en las bacterias lisas, se han ampliado los conocimientos sobre la estructura antigénica del género *Brucella*, gracias a numerosos estudios basados en análisis inmuno-electroforéticos y de inmunodifusión de extractos solubles de bacterias lisas (S) y rugosas (R).

Los principales antígenos hasta ahora identificados incluyen los complejos lisos y rugosos de lipopolisacáridos ( S-LPS y R-LPS ) y dos polisacáridos relacionados, el hapteno natural (NH) y el polisacárido B ( poli B ), y por lo menos 20 antígenos proteínicos se encuentran en el interior de los micro-organismos



Brucella. Los LPS y algunos antígenos proteínicos intervienen en pruebas de diagnóstico y en la actividad protectora cuando se emplean vacunas (15) (24).

#### 2.1.2.1 ANTIGENOS DE SUPERFICIE

Como en otras bacterias gramnegativas, la envoltura celular de los micro-organismos Brucella está compuesta por una membrana plasmática interna, rodeada de la capa rígida de peptidoglucanas asociado con la membrana externa (ME), que contiene principalmente fosfolípidos, lipopolisacáridos y proteínas ( proteínas de la membrana externa : PME ).

Los antígenos de superficie son :

a) S-LPS y haptenos relacionados. A diferencia de los S-LPS de las enterobacterias, el S-LPS de la Brucella se encuentra en la fase fenólica cuando se obtiene extractos de bacterias mediante el método basado en una solución acuosa de fenol en caliente. Estos extractos contienen S-LPS y también proteínas - ( 20 a 30% ), ácido nucléico ( 8% ) y en el polisacárido hapténico natural ( NH ). Los hidratos de carbono encontrados en preparaciones purificadas de S-LPS incluyen glucosa, manosa, glucosamina, quinovosamina, 4,6-didesoxi-4 formamido-D-manosa y 2-ceto-3-desoxioctónato ( KDO ). Se ha señalado que los

S-LPS de la cepa 1119-3 de *B. abortus* incluyen una fracción lípida A que contiene fosfolípidos, glucosamina y ácidos grasos, unido a un complejo polisacárido.

En contraste con los S-LPS de enterobacterias, los de *Brucella* no contienen heptosa.

Las moléculas de S-LPS son portadoras de los epítomos A y M, cuya distribución cuantitativa varía en los distintos biotipos lisos de *Brucella*. Las preparaciones endotóxicas sin refinar con agua y fenol, agua y eter, y ácido tricloroacético, contienen el polisacárido NH, que no tiene actividad con el hapteno del ácido acético ( AH ) de polisacáridos degradados provenientes de S-LPS hidrolizados.

Existe otro polisacárido, llamado poli B, en el citoplasma *B. melitensis* B115. Este produce una reacción de identidad con el AH y el NH en el caso de ciertos sueros.

b) Antígeno R-LPS.- Se obtiene tratando durante días los micro-organismos rugosos con una solución de NaCl ( 25 g/l ) en frío , que extrae las proteínas y luego con una solución acuosa de fenol en caliente.

Las preparaciones puras de R-LPS no contienen ácido nucléico y hay muy poca ó ninguna proteína. Los ácidos grasos son idénticos a los S-LPS.

Los R-LPS difieren de los S-LPS en que carecen de quinovosamina.

c) Proteínas de la Membrana Externa (PME).

Hace muy poco tiempo se han aislado la PME de *Brucella* y se las ha caracterizado sólo parcialmente. En cepas de *B. abortus*, existen dos grupos principales de proteínas con masas moleculares relativas de 36 a 38K y de 25 a 27 K (40).

En las cepas de *Brucella melitensis*, *B. canis* y *B. ovis*, contienen los dos grupos principales de PME, pero la proporción de las proteínas de 25 a 27 K con respecto a las de 36 a 38 K es mucho mayor que el caso de *B. abortus*.

d) Peptidoglucanes. La composición química general de los peptidoglucanes (PG) de *Brucella*, es similar a la correspondiente a otras bacterias gramnegativas, é incluye glucosamina, ácido murámico, alanina, ácido glutámico y ácido diaminopimélico.

No se cuenta con información detallada acerca de la secuencia y los enlaces cruzados de los peptidos.

La PG puede intensificar la respuesta inmunológica por su actividad coadyuvante.

#### 2.1.2.2. ANTIGENOS INTERNOS

El análisis inmunolectroferético de extractos solubles de Brucella, obtenidos mediante diversos métodos, revelan que existen por lo menos 20 antígenos proteínicos en su mayoría de origen intracelular, y algunos antígenos externos, que se precipitan con antisueros de titulaciones elevadas.

Se ha utilizado extractos proteínicos de Brucella como antígenos en pruebas cutáneas para detectar hipersensibilidad retardada. El extracto en solución salina de Brucella melitensis cepa B115 es la preparación alérgica mejor caracterizada.

#### 2.1.2.3. FUNCION DE LOS ANTIGENOS INDIVIDUALES EN PRUEBAS DE DIAGNOSTICO

Como se carece de estudios profundos sobre la purificación, son pocos los antígenos involucrados en las pruebas de diagnóstico que se han definido a nivel molecular.

El S-LPS es el principal antígeno que participa

en las pruebas ordinarias : aglutinación, fijación de complemento, Rosa de Bengala y la prueba del anillo de la leche. Los heptenos, NH y poli B, relacionados con los S-LPS, se usan en la prueba de inmunodifusión radial para diferenciar los animales infectados de los inmunizados.

## 2.2. DIAGNOSTICO CLINICO DE PACIENTES SINTOMATICOS

La brucelosis es reconocida como una enfermedad muy proteiforme, que puede dar los más variados cuadros clínicos. (41).

Al lado de pacientes en quienes su proceso coincide con los descritos por Marston ó Hughes (41) como fiebre gástrica del Mediterráneo ó fiebre Ondulante, existen formas agudas en las cuales el diagnóstico etiológico solo se puede llegar a través de hemocultivos positivos (10) (11) (17) (41).

Por otro lado desde que Miss Alice Evans, en 1934, describiera a la " brucelosis crónica " como padecimiento que produce disminución física y psíquica, comparable a la neurastenia, el reconocimiento de las manifestaciones localizadas, no febriles, se han multiplicado.

En tal forma, que puede aseverarse, sin temor a error, que son mucho más frecuentes las manifestaciones crónicas que las agudas. (22) (30) (35) (41).

Por ésto y por ser diferentes los elementos de diagnóstico, se estudia a ésta enfermedad en dos modalidades evolutivas : la aguda y la crónica (11) (40) (41).

a) Brucelosis Aguda.- El periodo de incubación puede ser tan sólo de 1 a 3 semanas, si bien por lo general no es posible determinarlo después de una prolongada exposición, como en el caso de la brucelosis profesional (11).

La primera, de comienzo brusco, se caracteriza porque el paciente pasa súbitamente de la salud a la enfermedad. Los síntomas iniciales suelen ser escalofríos, cefalea, fiebre continua (40<sup>o</sup> ó más ) crisis sudorales, mialgias, estado nauseoso, quebrantamiento del estado general y hepatosplenomegalia, y alteración del cuadro hematológico caracterizado por anemia, neutropenia y leucopenia (22) (26) (27).

Las localizaciones más variadas y graves suelen producirse en el curso de la evolución. Destacamos por

su frecuencia y gravedad, la encefalítis, mielítis, pancarditis, espondilitis y las formas hemorrágicas ó las panmielotisis por agresión a órganos hematopoyéticos y del sistema retículoendotelial.

La forma de comienzo insidioso, a sub-aguda, se caracteriza por no tener una iniciación bien precisa. El periodo de invasión es lento de sintomatología vaga. Paulatinamente, los pacientes pasan de la salud a la enfermedad. Los síntomas iniciales suelen ser algias generalizadas, astenia, cefaleas, náuseas, epistáxis, estados sub-febriles, crisis sudorales, etc.

El periodo de estado se caracteriza por fiebre en general, de tipo ondulante, sudores, algias y dolores articulares; manifestaciones gastrointestinales, hepatosplenomegalia y modificaciones significativas en el cuadro hematológico ( anemia y leucopenia con neutropenia ) (22) (26) (27).

Si el padecimiento no es interferido por una terapéutica antibiótica adecuada, pueden aparecer como acontecia en la era preantibiótica las más variadas localizaciones viscerales, óseas, neurológicas, pulmonares, cardiovasculares, genitales ( orquitis ú orquiepidimitis, ovaritis, salpingoovaritis, metritis y parametritis ), renales, hepáticas, etc. (11) (35)(40) - (41).

En general la brucelosis aguda se acompaña, de leucopenia que puede llegar a 3,000 o menos, linfocitosis absoluta y relativa (22) (26) (27) (41).

La seroaglutinación resulta positiva al cabo de una semana de enfermedad y los títulos máximos se alcanzan rápidamente con diferencias considerables de un enfermo a otro ( Foz ) (6).

La investigación de la Brucella se realiza fundamentalmente a partir de la sangre, por medio de Hemocultivos, pero también puede investigarse en siembras de biopsias de médula ósea, líquido cefalorraquídeo, ganglios linfáticos, tejido hepático, leche, orina, etc. (10) (17) (19) (21).

Las Brucellas son lentas para desarrollarse y exigen medios nutritivos ricos en proteína animal. Para el hemocultivo deben utilizarse de 5 a 10 cm<sup>3</sup> de sangre. Es necesario practicar siembras, en días alternos o sucesivos, tomando las muestras, de preferencia, en momentos febriles.

Un hemocultivo positivo certifica el diagnóstico. Una siembra negativa no permite, por si sola, descartar éste padecimiento. En la forma aguda de la enfermedad, el hemocultivo es positivo en el 80 al 90% de los casos. (6) (41).



En la brucelosis aguda puede producirse muerte como consecuencia de toxemia extrema, trombocitopenia, endocarditis ú otra de sus complicaciones más graves (11).

b) Brucelosis Crónica.- Se cataloga como tal, cuando persiste o recurre durante un periodo de 6 meses o más. El comienzo puede ser insidioso o seguir a un ataque agudo. A menudo se atribuyen los síntomas a influenza recurrente (11) y, como en el caso de la brucelosis aguda, los síntomas más frecuentes son debilidad, cefalalgia, dolor y sudores (11) (41).

Cuando el médico investiga con amplitud, podrá objetivar lesiones viscerales y/o hísticas de significación. Pocos padecimientos son tan proteiformes como la brucelosis y, por ello, capaces de atacar los más variados parénquimas y tejidos (41).

Cabe resaltar que la angustia y la depresión son comunes en los casos de infección prolongada no diagnosticada, especialmente cuando el paciente debe continuar trabajando y tiene pocas posibilidades de descanso (11).

Por otro lado, se afirma que produce disminución física y psíquica.

No obstante, es rara la depresión grave,

El único signo anormal notable es el bazo palpable encontrado en una minoría de pacientes (11).

En éstos casos suele encontrarse leucopenia ó discreta leucocitosis, especialmente ésta última en las complicaciones.

También puede ocurrir la disminución del título de aglutinación, pero al mismo tiempo, van aumentando entonces los anticuerpos capaces de fijar complemento, adquiriendo valor diagnóstico ésta reacción, Foz (6) le concede gran valor.

En tanto la brucelosis aguda expresa una septicemia, la brucelosis crónica configura, patomorfológicamente, una enfermedad sistémica, del tipo de la sepsis focal. Pero hecho fundamental, el periodo septicémico ha pasado ó, lo más frecuente, fué siempre una enfermedad sistémica, sin brote septicémico. Sólo por excepción hay bacteriemia transitoria; por ello, el hemocultivo es negativo (41).

### 2.3. CARACTERISTICAS EPIDEMIOLOGICAS

Las principales vías de transmisión de Brucellas en el hombre son : Ingestión, contacto é inhalación (11) (40).

La infección es también posible como resultado de una inoculación accidental. Sin embargo, en el hombre como en la mayoría de los huéspedes secundarios, la infección en cruz, no ocurre y la enfermedad no es transmitida sexualmente (11) (40).

La infección por ingestión tiene lugar principalmente a través de las membranas mucosas de las secciones superiores del tracto intestinal. Si la acidez del jugo gástrico es bajo o está diluído grandemente, las Brucellas pueden entrar a través de la membrana mucosa del estómago. Esto se lleva a cabo por la ingestión de productos natural ó artificialmente contaminados por Brucella viva y virulenta (11) (41).

En la leche cruda y los subproductos ( quesos, natas, helados, etc ) pueden conservarse las Brucellas por mucho tiempo.

René J. Dubos (40), dá cifras de 824 días para la leche congelada. Las carnes mal cocidas provenientes de animales infectados conservan según G.E. Renoux (40), poder contaminante hasta 30 días. El agua contaminada por secreciones de animales y el polvo de barracas, corrales, establos, etc., pueden ser responsables de infección (41).

En la infección por contacto, la Brucella entra

generalmente al cuerpo humano a través de la piel de las manos. También pueden ser llevadas por las manos a las conjuntivas.

La infección por inhalación, ha sido verificada por estudios experimentales. ( T.M. Buchanan, C.R. Sulzer, M.K. Frix y R. Feldman; Brucelosis en los EE.UU. 1972 ).

La inhalación ó la contaminación conjuntival producen la infección inmediata (11).

La transmisión de la brucelosis por inoculación accidental, ocurre en laboratorios y es más, probablemente, en el campo, donde se usan jeringas agujas y se preparan vacunas.

Aunque la infección en el hombre es adquirida raramente del entorno, la significación epidemiológica de factores ambientales no debiera ser menospreciada. Los pozos usados para bañar a los animales infectados, son a menudo contaminados excesivamente (40).

El estiércol y el suelo pueden ser agentes de transmisión por vía aérea o por contacto. Hay también un riesgo de infección cuando se consumen vegetales que crecen en tierras enriquecidas con estiércol de animal infectado (11) (40).

### III. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 MATERIALES Y MEDIOS

##### 3.1.1 MATERIALES DE VIDRIO Y OTROS

- Balones de 500 y 1000 ml.
- Probetas de 100 ml.
- Tubos de 13 x 100 y 16 x 150.
- Placas Petri de 15 x 100.
- Frascos de vidrio ( Cap. 100 ml )
- Frasco de 1000 ml con tapón bioradado.
- Bureta de 50 ml.
- Cámara de Neubauer.
- Pipeta para glóbulos blancos.
- Pipeta para Glóbulos rojos.
- Pipeta de Sahli.
- Porta-objetos y cubre-objetos.
- Tubo de Wintrobe para hematocrito.
- Viales de vidrio con tapa de jebe
- Mechero de Alcohol.
- Asa de Kolle.
- Jeringas y agujas descartables.
- Estufa.
- Baño María.

##### 3.1.2. MEDIOS DE CULTIVO

- Agar tripticasa soya ( Britania )

- Infusión cerebro corazón ( Britania )
- Peptona ( Merck ).
- Infusión de papa ( Solanum Tuberosum ),  
variedad Huayro.

- FORMULA DEL MEDIO BIFASICO :

1º FASE SOLIDA.

Tripteína Soya, Agar.....	26 g
Citrato de Sodio.....	2.5 g
Infusión de Papa ( c.s.p.).....	500 ml

2º FASE LIQUIDA

Infusión cerebro corazón	500 mg
Peptona.....	10 g
Cloruro de Sodio.....	5 g
Glucosa.....	2 g
Fosfato Di-Sodico.....	2.5 g
Infusión de papa (c.s.p.) .....	500 ml

3º INFUSION DE PAPA

- Cortar en trozitos pequeños la papa, -  
previamente pelada y lavada ( 250 g )  
para una litro de agua destilada.  
Llevar a Baño María a 60° c, por 12 ho  
ras, luego filtrar.

### 3.1.3. REACTIVOS

- Glucosa ( Merck )
- Cloruro de Sodio ( Merck )
- Fosfato di-sódico ( Merck )
- Citrato de sodio ( merck )
- Carbonato di-sódico ( Merck )
- HCl ( P.A. )
- Alcohol absoluto
- Bateria para coloración de GRam.
- Antígeno de Brucella, para aglutinación -  
en placa ( Labifarma )
- Colorante Wright
- Anticoagulante de Wintrobe
- Reactivo de Drabkin.
- Reactivo de Turk.
- Reactivo de Gower.

### 3.2. METODO OPERATORIO

#### 3.2.1. MUESTRA ( FLUJOGRAMA ).

Con el propósito de detectar la incidencia y aislamiento de Brucella en pacientes sintomáticos que asistieron para ser atendidos en el Servicio Académico Asistencial de Análisis Clínicos ( SAAAC ) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica. Se

estudiaron 172 casos de pacientes, cuyas edades fluctuaron entre 2 y 83 años, practicándoles, aglutinaciones, hemograma completo y hemocultivos según sintomatología.

Obtenidas las muestras, éstas fueron procesadas en los Laboratorios del SAAAC - ( Tabla No. 1 )

### 3.2.2. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA.

#### - HEMOCULTIVO

La muestra se obtuvo por punción venosa empleando aguja y jeringa descartables, junto a un mechero de alcohol.

Inmediatamente fue procesada, llevando a incubación a 36 ° C por 72 horas como mínimo y hasta 21 días.

Se trabajó siguiendo los siguientes pasos :

#### a) CULTIVO Y AISLAMIENTO

Se inoculó más o menos 5 ml. de sangre en los frascos de hemocultivo bifásico, homogenizando con suave agitación.

Incubando a 36 ° C durante 21 días.

Controlando cada 24 horas si hay crecimiento positivo. De ser negativo, humedecer la fase sólida del medio



bifásico con agitación suave.

b) IDENTIFICACION.

En los cultivos positivos, con colonias sospechosas, se prosiguió :

Efectuando coloraciones de Gram, para verificar las características morfológicas de las bacterias.

Pruebas Bioquímicas como son :

- Los requerimientos de  $\text{CO}_2$  para el desarrollo de los cultivos.
- La producción de  $\text{H}_2\text{S}$ .

Pruebas bacteriostáticas : utilizando la Fucsina básica ; Este colorante ofrece sensibilidad sobre el crecimiento de las colonias.

HEMOGRAMA

Parte de la muestra obtenida por punción venosa, fué destinada para la realización del hemograma completo respectivo, más o menos 2 ml., los cuales, se colocaron en un vial con anticoagulante de Wintrobe.

Con ésta muestra se realizaron las pruebas de :

Leucometría, Hematimetría, Hematocrito (microhematocrito ) y hemoglobina.

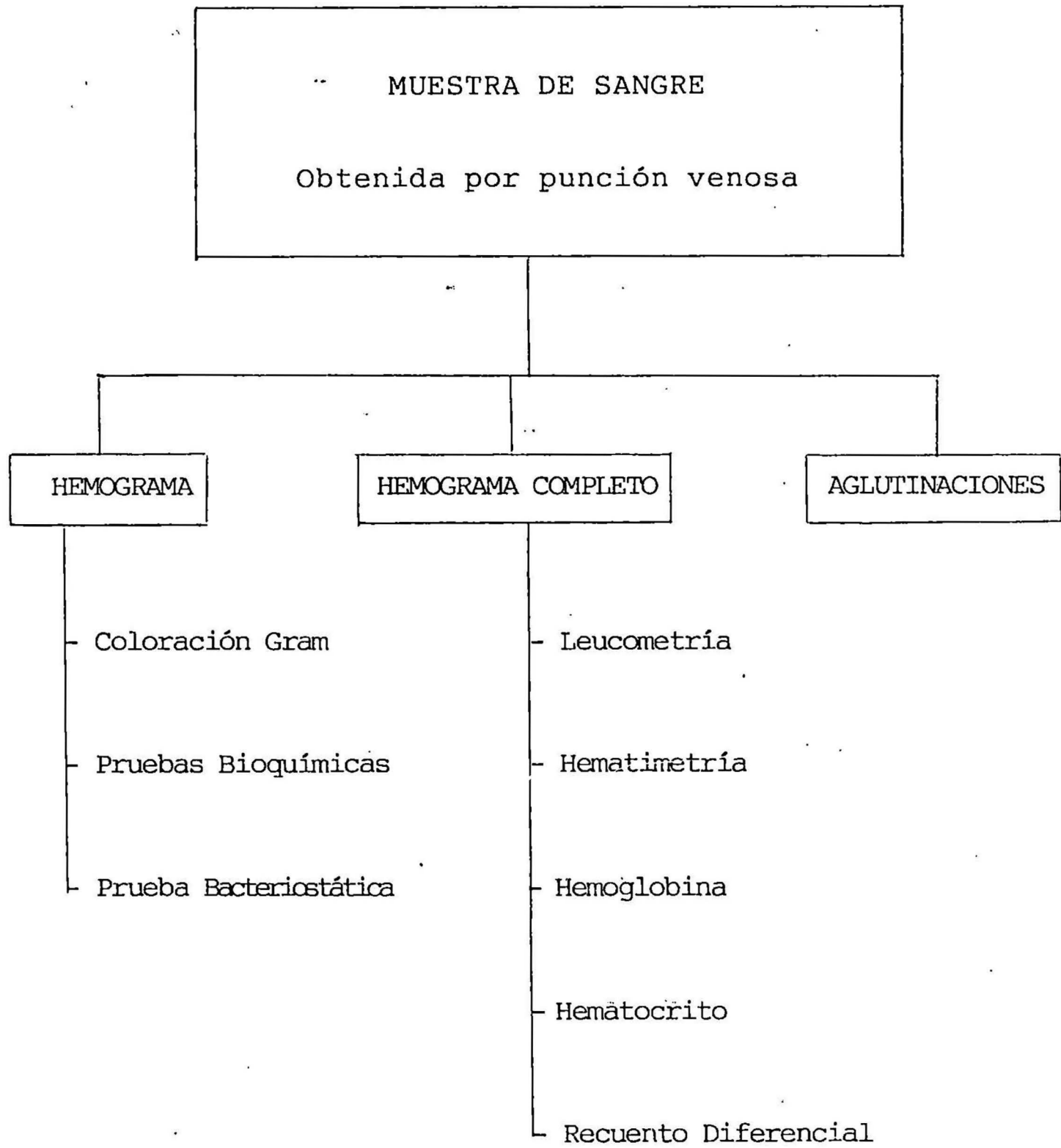
Estas pruebas fueron el complemento, tanto de los cultivos como de las aglutinaciones realizadas.

- AGLUTINACIONES

Para ésta prueba, se destinaron 3 ml. de sangre  
Separado el suero por centrifugación, las reacciones de aglutinación en placa de cada caso.

Se trabajó el antígeno de Brucella.  
para cada caso, se efectuó la titulación correspondiente.

TABLA No. 1



#### IV. RESULTADOS

Se efectuaron Aglutinaciones, Hemogramas completos y Hemocultivos en muestras de sangre, de pacientes sintomáticos, que acudieron al servicio Académico Asistencial de Análisis Clínicos ( SAAAC ) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, entre los meses de Enero a Agosto de 1992.

Se realizó los análisis correspondientes a 172 pacientes, de los cuales 66 ( 38.37% ) fueron del sexo masculino y 106 ( 61.63% ) del sexo femenino, ver Tabla No. 2

Las edades de los pacientes sometidos a ésta investigación fluctuaron entre los 2 y 83 años.

De los 172 pacientes, en los casos analizados por aglutinaciones, resultaron positivas 26 ( 15.11% ) para brucelosis y 146 ( 84.89% ) negativas para brucelosis, según Tabla No. 3

Mediante la distribución, según la edad y sexo de los casos estudiados, se puede ver, que se ha tenido mayor número de pacientes mujeres que tenían edades entre 21 a 30 años, sumando un total de 35 ( 20.34% ). En el caso de pacientes del sexo masculino, hubo mayor número entre la edad de 21 a 30 años, con un total de 28 ( 16.28 % ), ver Tabla No. 4

De los 26 casos de Brucelosis confirmada por Aglutinaciones ( Título por encima de 1/80) a quien también acompañó su respectivo hemograma completo, correspondieron el mayor número de muestras ( 63), al grupo etario comprendido entre 21 - 30 años, é igualmente el mayor número de casos positivos (15) al mismo grupo, según la Tabla No. 5.

Se determinó , que de los 26 casos positivos, sólo 16 correspondían a una Brucelosis en proceso.

En la distribución porcentual de casos positivos según el sexo, correspondió el mayor número; 17 casos (16.04%) al sexo femenino y 9 casos ( 13.64% ) al sexo masculino. Según la Tabla No. 6

De los 16 casos en franco proceso de Brucelosis, se obtuvo bacteriológicamente positivas, 4 muestras, además 7 casos correspondieron al sexo masculino y 9 al sexo femenino.

A partir del aislamiento bacteriológico, se logró identificar 3 cepas de *Brucella melitensis* - ( 1.75% ) y la cepa *Brucella abortus* ( 0.58% ) según la Tabla No. 7.

Al analizar la procedencia de los pacientes, para los casos positivos, 24 de ellos ( 92%) provienen

de Lima y sus alrededores y sólo 2 casos ( 8% ) de provincias según la Tabla No. 8..

De acuerdo a la actividad ú ocupación, se estableció que de los 26 casos positivos; 9 ( 34.6% ) eran empleados ú obreros, 10 casos ( 38.4% ) se dedicaban a su hogar, 7 de ellos ( 27% ) resultaron ser estudiantes, según el cuadro No. 9.

Por otro lado, el mayor número de casos positivos, se registró entre los meses de Febrero y Marzo, correspondiéndoles 5 y 6 casos respectivamente. Coincidentemente en éstos mismos meses se logró captar el mayor número de pacientes. ( 59 muestras ) según la Tabla No. 10.

También se logró determinar que la sintomatología común en los 26 casos positivos, fueron Fiebre y Malestar general ( 100% ). Otro síntoma de alto porcentaje ( 77% ) fue la Cefalea, dolor articular ( 57% ), náuseas ( 38% ). Otros síntomas se encontraron en menor porcentaje. Según la Tabla No. 11.

De acuerdo a la pruebas hematológicas, de los 16 casos positivos; 14 ( 88% ) presentaban anemia. Trece de ellos ( 81% ) presentaban leucopenia, 10 ( 63% ) neutrofilia, 11 casos ( 69% ) linfocitosis. Según la Tabla No. 12.

**TABLA No. 2**

NUMERO DE CASOS ESTUDIADOS SEGUN SEXO

SEXO	CASOS	PORCENTAJE
Masculino	66	38.37
Femenino	106	61.63
TOTAL	172	100.00

**TABLA No. 3**

RELACION PORCENTUAL DE LOS CASOS POSITIVOS

AGLUTINACION	CASOS	PORCENTAJE
Positivos	26	15.11
Negativos	146	84.89
TOTAL	172	100.00

**TABLA No. 4**

**RELACION PORCENTUAL DE LOS CASOS ESTUDIADOS SEGUN  
EDAD Y SEXO**

EIDADES (Años.)	MASCULINO		FEMENINO		TOTAL
	Casos	%	Casos	%	
2 - 10	5	2.91	10	5.81	15
11 - 20	11	6.40	12	6.97	23
21 - 30	28	16.28	35	20.34	63
31 - 40	10	5.80	21	12.20	31
41 - 50	6	3.49	18	10.44	24
51 - 60	1	0.58	6	3.48	7
61 - 70	5	2.91	2	1.16	7
71 - 83	0	0.00	2	1.16	2
TOTAL	66	38.37	106	61.63	172



**TABLA No. 5**

**RELACION PORCENTUAL DE CASOS POSITIVOS EN AMBOS SEXOS**

**SEGUN LA EDAD**

EDADES (Años)	TOTAL MUESTRAS	NEGATIVOS	POSITIVOS	PORCENTAJES POSITIVOS
2 - 10	15	15	0	0.00
11 - 20	23	21	2	8.69
21 - 30	63	48	15	23.81
31 - 40	31	28	3	9.68
41 - 50	24	21	3	12.50
51-60	7	7	0	0.00
61-70	7	5	2	28.50
71-83	2	1	1	50.00
TOTAL	172	146	26	15.11

**TABLA No. 6**

**DISTRIBUCION PORCENTUAL DE CASOS POSITIVOS SEGUN SEXO**

AGLUTINACIONES	MASCULINO		FEMENINO	
	CASOS	%	CASOS	%
POSITIVOS	9	13.64	17	16.04
NEGATIVOS	57	86.36	89	83.96
TOTAL	66	100.00	106	100.00

**TABLA No. 7**

**ESPECIES DE BRUCELLAS AISLADAS**

ESPECIE	NUMERO	%
Brucella Abortus	1	0.58
Brucella melitensis	3	1.75
TOTAL	4	2.33

**TABLA No. 8**

**PROCEDENCIA DE CASOS POSITIVOS**

PROCEDENCIA	CASOS	PORCENTAJE
Lima y Alrededores	24	92%
Provincias	2	8%
TOTAL	26	100%

**TABLA No. 9**

**RELACION PORCENTUAL SEGUN ACTIVIDAD U OCUPACION**

ACTIVIDAD	CASOS	PORCENTAJE
Empleado ú Obrero	9	34.6%
Su Hogar	10	38.4%
Estudiante	7	27.0%
TOTAL	26	100.0%

**TABLA No. 10**

**VARIACION ESTACIONAL DE LOS CASOS ESTUDIADOS.**

MESES	MUESTRAS EXAMINADAS	NEGATIVOS	%	POSITIVOS	%
Enero	29	26	90.0	3	10.0
Febrero	31	26	84.0	5	16.0
Marzo	28	22	79.0	6	21.0
Abril	20	16	80.0	4	20.0
Mayo	11	9	82.0	2	18.0
Junio	15	13	87.0	2	13.0
Julio	18	15	83.0	3	17.0
Agosto	20	19	95.0	1	5.0
TOTAL	172	146		26	

**TABLA No. 11**

RELACION PORCENTUAL DE SINTOMATOLOGIA PRESENTADA POR  
LOS CASOS POSITIVOS

SINTOMATOLOGIA	CASOS	PORCENTAJE
Fiebre	26	100.0%
Malestar General	26	100.0%
Cefalea	20	77.0%
Dolor articular	15	57.0%
Náuseas	10	38.0%
Estreñimiento	5	19.0%
Baja de peso	5	19.0%
Diarrea	2	8.0%
Escalofrios	2	8.0%
Sintomatología Urinaria	1	4.0%

TABLA No. 12

RELACION PORCENTUAL DE LAS PRUEBAS HEMATOLOGICAS PARA  
LOS CASOS POSITIVOS.

PRUEBA	NORMAL	%	AUMENTADO	%	DISMINUIDO	%
Hemoglobina	2	12	--	--	14	88
Leucocitos	3	19	--	--	13	81
Neutrófilos	--	--	6	37	10	63
Linfocitos	--	--	11	69	5	31
Hematíes	3	19	--	--	13	81
Hematocrito	3	19	--	--	13	81

## V. DISCUSION

En el curso de ésta investigación, se han realizado los análisis inmunológicos, hematológicos y microbiológicos, con el fin de aislar y determinar la incidencia de Brucella en Pacientes Sintomáticos.

Es importante resaltar, que ésta premisa no se pudo cumplir con el ciento por ciento de los pacientes, puesto que, en muchos casos negaron encontrarse en tratamiento. En otros casos, se negaron al hemocultivo.

En el Perú, la Brucelosis humana está circunscrita al departamento de Lima y la Provincia Constitucional del Callao (31 ) en donde se registran el mayor número de casos.

El vehículo de transmisión de brucelosis en el humano, es a través del consumo de quesos frescos elaborados con leche procedentes de cabras infectadas con brucelosis y como sabemos toda la ciudad de Lima y sus alrededores son focos de contaminación por el escaso control sanitario de dichos productos (2) (31).

Un estudio epidemiológico del Ministerio de Salud, mostró que el 44% de los rebaños de los alrededores de Lima, estaban infectados, en especial el ganado caprino que es el principal reservorio del

gérmen (31) (2) (18).

Sumado a éstos datos, los alimentos consumidos fuera del hogar, parecen ser los causantes directos, pues en las encuestas realizadas en el presente trabajo; el manifiesto de los pacientes, culpaban a éstos alimentos y más aún, eran casos únicos en sus respectivos hogares.

Como se sabe, no es trasmisible, más que por la ingesta directa de la bacteria, ó inoculación accidental.

Los datos obtenidos en el presente trabajo, debieran ser considerados para reconocer al SAAAC, como un termómetro de incidencia de Brucelosis, así como de otros datos.

El hecho, es que capta pacientes de toda la periferie de la Gran Lima.

Este trabajo, refleja quizás, coincidencias con los datos teóricos; por cuanto de alguna forma se verifican muchas premisas : Es una enfermedad que afecta a la población económicamente activa ( La mayor incidencia la encontramos en el grupo etáreo comprendido entre 21 y 40 años con 12 casos positivos 70.5% ).

Resalta, el hecho que en mayor prevalencia tiene



para el sexo femenino ( 7 casos, 58.33% ) de los doce presentados.

Los hemocultivos realizados en éste trabajo, han tenido por finalidad tratar de ser específicos para el aislamiento de Brucella, dando las condiciones que ella requiere ( muy exigente ).

En éste sentido, el medio bifásico de Ruiz Castañeda, fué experimentalmente " modificado " con ésta intención.

La utilización de papa ( Solanum tuberosum ), variedad " Huayro " en éste caso, recomendado por varios autores (1) (40). (29).

Queda la invitación, a investigar otras variedades de nuestra rica flora, para poder obtener, mejores resultados que los ya obtenidos hasta el momento.

Los factores condicionantes de ésta alta coincidencia de brucelosis puede ser : El poco control sanitario por parte de las autoridades y la irresponsabilidad de las personas ( vendedores de comida y consumidores ).

Por otro lado, han aparecido en Lima, algunos

factores que son : deterioro de la capacidad económica de la población como consecuencia de la crisis que vivimos, acúmulo desmesurado de desperdicios por mala política municipal, barrios marginales con pobres condiciones de salubridad, preparación doméstica de alimentos que luego son expendidos libremente por vendedores ambulantes sin la más mínima condición de higiene.

## VI. CONCLUSIONES.

De los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación se concluye lo siguiente :

1. De los pacientes sintomáticos, corresponde un 15.11% de prevalencia por brucelosis.
2. La mayor cantidad de pacientes infectados por *Brucella*, se encontró en mujeres, cuyas edades fluctúan entre los 21 y 40 años.
3. Se logró aislar 3 cepas de *Brucellas melitensis* y una cepa de *Brucella abortus*.
4. La modificación del medio bifásico de Ruiz Castañeda a base de papa, le da especificidad en el aislamiento de *Brucella*.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. AIQUEL, Federico.

Manual de Análisis Clínicos.

2. ANALES del Seminario Nacional de Zoonosis y Enfermedades de transmisión alimentaria., 3-4 de Julio 1989.

Lima - Perú, Ministerio de Salud. Programa Nacional de Zoonosis.

3. ACOSTA M., LUDEÑA H., BARRETO D., MORO M.

Brucelosis en Alpacas. Rev. Inst. Zoon. Invest.

Pec. 1:37 - 49, 1972.

4. ACOSTA M., KENNETH CAMPOS G., REYES F., VIERA F.

Brucelosis canina causada por B. canis. Vet. Zootecn. No. 87-89 : 27-33, 1978.

5. BACTERIAL Infections of humana. Epidemiology and control 1983 Edited by A.S. Evans H.A. Feldman, Plenum predical book company, New York and London.

6. BALCELLS, A.

La Clínica y el Laboratorio Salvat.

7. BAYLEY - SCOTT.

Diagnóstico Microbiológico.

Editorial Panamericana.

8. BOCANEGRA, T. y COL.- Patogénia de la artritis  
Brucelósica.

Libro de resúmenes del II Cong. Nac. de  
Med. Interna, 1982.

9. BULDON Loarte F. Programa de Control de Brucelosis  
en el Perú. Seminario Taller sobre evaluación  
del Programa de Brucelosis. Ica, 1979.

10. CISNEROS L. V. Estudios Bacteriológicos y Serológico  
de Brucella suis. Determinación de Biológicos  
VI Cong. Nac. Cien. Vet. pág 44-45 Piura-Perú  
1980.

11. COMITE de Expertos de Brucelosis.

Sexto informe.

FAO / OMS.

12. ESCALANTE J., HELD J. Brucelosis en el Perú J. Amer.  
Vet. Med. Ass. 155, 1969.

13. FALCONI, E. y Col.- Compromiso Cutáneo en Brucello-  
sis. Libro de Resúmenes del II Cong. Nac. de  
Med. Int., 1982.

14. FERNANDEZ, A.- El compromiso del Aparato Locomotor en la Brucelosis en el Hospital 2 de Mayo.- Libro de Resúmenes del I Congreso de Med. - Int. 1980.

15. FONNENWIRT, Alex C., Jarret, Leonard.  
Métodos y Diagnóstico del Laboratorio Clínico. Gradwohl - Editorial Panamericana.  
Buenos Aires - Argentina, 8va. Edición.

16. GOTUZZO, E. y Col. Evaluación del Tratamiento en Pacientes con Brucelosis. Libro de Resúmenes del II Cong. Nac. de Med. Int., 1982.

17. GOTUZZO, E. y Col.- Evaluación de los Métodos Diagnósticos en Brucelosis. Libro de resúmenes del I Cong. Nac. de Med. Int., 1980.

18. GOTUZZO, E., Carñillo C., Guerra J.  
Brucelosis en el Perú 1984. III Cong. Nac. - de Med. Int., Lima 1984.

19. GRUNINGER, P.R.- Enfermedades infecciosas :  
Brucelosis .Libro de Terapéutica de 1977.

20. GUERCI, Aldo.  
Métodos de Análisis Clínicos y su Interpretación

ción. Editorial El Ateneo.

21. GUTIERREZ, L.D.- Symposium sobre Brucelosis. Aspectos Clínicos.

Revista Viernes Médico XXII : 125, 1971.

22. HAMMERLY, Marcelo.

Nuevo tratado Médico - Tomo II

Casa Editora Sudamericana.

23. HARRISON, A.T.- Medicina Interna. 6a. Edición en inglés. Tomo I 1973.

24. JAWETZ, Ernets.

Manual de Microbiología Médica.

Editorial El Manual Moderno.

25. JUSTUS, J. Shhiffes.

Enciclopedia Médica.

Editors press service.

26. LLOSA, L. y Col.- Alteraciones Hematológicas en Brucelosis. Libro de Resúmenes del I Cong. Nac. de Med. Int., 1980.

27. MAITA, Z.R.- El compromiso hepático de la Brucelosis en el Hospital Nacional " Guillermo Almenára

Irigoyen " del I.P.S.S. Libro de Resúmenes -  
del II Cong. Nac. de med. Int., 1982.

28. MATTHEW J., Lynch, Stanley S. Raphael, Leslie D. Me-  
llor.

Métodos de Laboratorio.

Editorial Interamericana.

29. MERCK SHARP Y DOHME INTERNATIONAL. Manual Merck Se-  
tima Edición. Nueva Editorial Interamericana  
S.A. México D.F. 1986.

30. PONS, A.P.- Enfermedades infecciosas : Brucelosis.  
Editora SALVAT.

31. REVISION DE LOS CASOS DE BRUCELOSIS EN EL PABELLON  
No. 2 DEL HOSPITAL ARZOBISPO LOAYZA.  
Drs . Expinoza V., Mario; Marotta P., Humber-  
to; Tataje M., José; Palomino V., Margarita;  
Moscoso G., Iván F; Zegarra del Rosario, Fran-  
cisco E. Universidad Peruana Cayetano Here-  
dia. 1984.

32. RECAVARREN, A y Col.- Patogénesis de la Hepatitis -  
Granulomatosa por Brucella. Act. Med. Per. -  
4: 1-4, 1975.

33. SALCEDO Coa, Dario, Prof. Crispin, Víctor.



Medios de cultivo, Interpretación Bioquímica  
Lima - Perú 1985.

34. SALCEDO Coa, Darío.

Manual de Microbiología Clínica.

Lima - Perú 1985.

35. SANTILLANA, L. y Col. Brucelosis : Consideraciones  
Clínicas y Terapéuticas. Revisión de 50 Ca -  
sos. Rev. Clin. Española, Tomo 141, No. 2, -  
1976.

36. SMITHD T, CONANT N.F., ZINNSER J.N. OVERMAN J/R, MI  
CROBIOLOGY, Décimo tercera edición New York :  
Appleton Century - Crofts 1964.

37. TATAJE, M. y Col.- Complicaciones de la Brucelosis:  
Neurobrucelosis + C.I.D. Brucelósica + I.R.A  
Libro de Resúmenes del I Cong. Nac. de Med.  
Int. 1980.

38. TEMPLE, S.A.- Algunos Aspectos de la Brucelosis Hu-  
mana. Revista Viernes Médico XIV : 114, 1963

39. TEMPLE, S.A.- Symposium sobre Brucelosis : Aspectos  
Terapéuticos. Revista Viernes Médico XXII :  
125, 1971.

40. TECHNIQUES FOR THE BRUCELOSIS LABORATORY.

G.G. Alton / L.M. Jones.

R.D. Angus / J.M. Verger

INRA - Paris 1988.

41. VERONESI Ricardo. Enfermedades Infecciosas y Parasi  
tarias. Primera Edición. Editorial El Ateneo.

Buenos Aires 1971.

42. VILLALTA, F.- Aislamiento y Experiencias in Vitro de  
la IgM anti-Brucella melitensis 16 M.

Diagnóstico, Vol I, Nos. 11-12-1978.